

不同温度下丛枝菌根对苍术根茎生物量和挥发油的影响

张 霁^{1,2}, 刘大会^{1,2}, 郭兰萍^{1*}, 金 航², 杨 光¹, 周 洁¹

1. 中国中医科学院中药研究所, 北京 100700

2. 云南省农业科学院药用植物研究所, 云南 昆明 650223

摘 要:目的 研究高温胁迫下根内球囊霉 *Glomus intraradices* (AM 真菌) 对苍术根茎生物量及其根茎挥发油成分的影响。方法 采用盆栽试验, 接种 AM 真菌, 测定苍术地下部分生物量和根茎挥发油的量。结果 高温胁迫显著降低了栽培苍术在自然条件下的 AM 真菌侵染率, 而接种 AM 真菌 苍术根系的侵染率无影响。高温胁迫下, 接种 AM 真菌苍术根系的侵染率与未接种的苍术相比超过 4 倍。高温胁迫下, 接种 AM 真菌可显著提高苍术根茎鲜质量、根茎含水量、根干质量、地下总干质量、挥发油组分, 显著降低苍术根茎挥发油中愈创醇与茅术醇的量。结论 高温胁迫下接种 AM 真菌, 有利于提高苍术根系侵染率、促进苍术地下部分生物量的积累, 并影响苍术根茎挥发油总数和主要组分的量。

关键词: 高温胁迫; 苍术; 丛枝菌根; 生物量; 挥发油

中图分类号: R282.1

文献标志码: A

文章编号: 0253-2670(2011)02-0372-04

Effects of arbuscular mycorrhizae fungi on biomass and essential oil in rhizome of *Atractylodes lancea* in different temperatures

ZHANG Ji^{1,2}, LIU Da-hui^{1,2}, GUO Lan-ping¹, JIN Hang², YANG Guang¹, ZHOU Jie¹

1. Institute of Chinese Materia Medica, Academy of Traditional Chinese Medicine, Beijing 100700, China

2. Institute of Medicinal Plant, Yunnan Academy of Agricultural Sciences, Kunming 650223, China

Key words: heat stress; *Atractylodes lancea* (Thunb.) DC.; arbuscular mycorrhizae(AM); biomass; essential oil

苍术 *Atractylodes lancea* (Thunb.) DC. 为菊科多年生草本植物, 其根茎为中药苍术的主要来源, 具有燥湿健脾, 祛风散寒, 明目之功效^[1-3]。挥发油被认为是苍术的主要药理活性成分^[4]。除了受自身遗传因素控制外, 环境因素是引起苍术挥发油发生变化的主要原因^[5]。采用 GIS 技术对苍术挥发油的气候适宜性区划研究表明, 北亚热带地区是苍术正常发育的最南边, 中亚热带地区有零星分布, 栽培实践中发现, 最高温度达到 30℃时可导致苍术出现死苗, 提示高温是限制苍术生长发育的生态因子之一。但高温有利于苍术挥发油的积累, 其挥发油量从北向南逐渐增加^[2]。说明苍术挥发油的积累与适合生长的环境要求上是矛盾的。

丛枝菌根 (arbuscular mycorrhizae, AM) 是一类在自然界中真菌与植物根系形成的共生体。AM 真菌可通过菌丝更为有效地获取宿主植物根际的矿

质元素, 同时又可促进植物对土壤水分的吸收, 促进植物生长发育, 提高植物抗逆性^[6]。近年的研究发现接种 AM 真菌可促进苍术根系对土壤养分的吸收, 提高苍术根际土壤微生物的功能多样性及代谢活性, 影响苍术根际区有机质组成, 从而显著促进苍术的营养生长, 提高产量^[7-8]。本研究采用可控实验, 研究不同温度条件下接种 AM 真菌对苍术地下生物量和根茎挥发油组分的影响, 探索较高环境温度下, 栽培苍术通过接种 AM 真菌提高产量和品质的方法。

1 材料和方法

1.1 材料

AM 真菌根内球囊霉 *Glomus intraradices* (编号 BGC-USA04), 选自北京市农林科学院植物营养与资源研究所国家基金资助“中国丛枝菌根真菌种质资源库 (BGC)”。

收稿日期: 2010-05-23

基金项目: 国家“十一五”科技支撑计划课题 (2006BAI09B03); 国家重点基础研究发展计划 (“973”) (2006CB504701); 中国中医科学院基本科研业务费自主选题项目 (ZZ2008095); 国家中医药管理局中医药标准化项目 (ZYYS—2008); 国家中医药管理局“中药资源可持续发展战略研究”专项 (200707014)

*通讯作者 郭兰萍 Tel: (010)64011944 E-mail: glp01@126.com

苍术新鲜根茎为来源于湖北英山的同一批样品。由于实际栽培中,根茎繁殖是苍术的主要繁殖方法之一,往往无法实现有效灭菌,所以本实验模拟大田条件,对苍术根茎不做灭菌处理。

1.2 接种方法及栽培管理

土壤取自中国医学科学院药用植物研究所田间试验基地耕作层(1~20 cm)土壤,风干过筛,在121℃高压灭菌锅内灭菌2 h。采用温室盆栽方法,设不接种(CK组)和接种根内球囊菌(AM组)2个组,每处理8个重复,每重复1盆,栽种苍术9株。每盆装土7.0 kg,1 kg土壤加0.10 g (NH₄)₂SO₄、0.15 g KH₂PO₄、0.15 g K₂SO₄、0.7 mL Arnon 微量元素营养液。2008年3月10日,选择大小一致的苍术根茎,每盆层施AM菌剂60 g。3月25日第1次施肥,每盆施入1.77 g (NH₄)₂SO₄、0.72 g KH₂PO₄、49 mL Arnon 微量元素营养液。4月10日将CK组和AM组分别移入中国中医科学院中药研究所人工气候室(AGC-II人工气候室,杭州求是环境科技有限公司),设2个温度梯度,T1(常温):18~25℃,T2(高温):25~34℃,每个温度梯度重复4次。5月25日第2次施肥,每盆施入1.53 g (NH₄)₂SO₄、1.45 g KH₂PO₄和49 mL Arnon 微量元素营养液。生长期间按常规管理,定期浇水、护理。11月25日收获苍术植株的根茎和根,于室内风干。

1.3 测定方法

1.3.1 AM 真菌的侵染率测定 采用曲利本蓝染色法进行测定^[9]。

1.3.2 生物量测定 测定每重复全部苍术根茎的总鲜质量,风干后分别测定每重复苍术根茎及根总干质量,并用以上相关数据计算个体平均根茎鲜质量、根茎干质量、根茎含水量、根干质量和地下总干质量。部分重复存在个别苍术死亡的现象,计算平均值时以实际存活个体数进行计算。

1.3.3 根茎挥发油的 GC-MS 分析 采用《中国药典》2010版一部附录挥发油测定甲法^[3]分单株提取苍术挥发油,每次处理随机取样6株。

用GC内标法测定β-桉叶醇的量^[10]。β-桉叶醇对照品由中国中医科学院中药研究所傅梅红研究员提供(质量分数大于99%)。

用GC-MS测定苍术挥发油组分归一化质量分数。GC-MS柱箱程序:初始60℃,以5℃/min升温至160℃,保持10 min,后以5℃/min升温至280℃,保持4 min。进样口:气化室280℃,分流比

20:1。传输线温度280℃。色谱柱为HP-5(30 m×250 μm,0.5 μm)。MS信息:溶剂延迟5 min。全扫描模式,扫描范围为m/z 29.0~500.0。离子源温度为230℃,MS四级杆温度为150℃。

根据GC测得β-桉叶醇量,及归一化质量分数大于1%的各组分百分比,计算这些组分的量,并统计各样品可检测到的组分数。

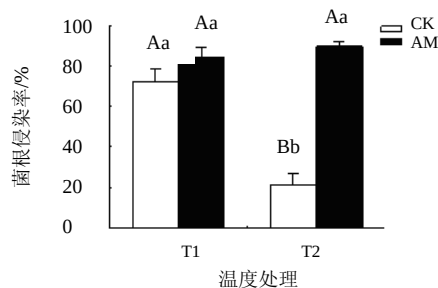
1.4 数据处理

用SPSS 13.0进行独立样本t检验分析。

2 结果与分析

2.1 不同温度下 AM 真菌对苍术根系的侵染

由图1可知,T1条件下,AM组苍术根系的侵染率为84%,CK组的侵染率为72%,二者无显著差异;T2条件下,AM组苍术根系的侵染率为89.5%,显著高于CK组的21%($P<0.05$)。CK组苍术根系的侵染率在T2条件显著低于T1条件($P<0.05$),而AM组苍术根系的侵染率在不同温度无显著差异。说明高温胁迫可以降低栽培苍术在自然条件下的侵染,而对接种根内球囊菌的苍术显著无影响。



不同大写字母表示同一温度条件、不同接种处理的数值之间有显著差异,不同小写字母表示不同温度条件、同一接种处理的数值之间有显著差异($P<0.05$),下同

Data with various capital letters show significant difference in same temperature by different inoculation; Data with various small letters show significant difference ($P<0.05$) in different temperatures by same inoculation, same as below.

图1 不同温度下 AM 真菌的侵染率

Fig. 1 Infection rate of AM fungi in different temperatures

2.2 不同温度下 AM 真菌对苍术生物量的影响

由表1可知,在T1条件下,CK组苍术与AM组苍术各项数值无差异;在T2条件下,AM组苍术的根茎鲜质量、根茎含水量、根干质量、地下总干质量均显著高于CK组($P<0.05$),而AM组苍术的根茎干质量与CK组苍术无差异。T2条件下CK

各项数据均高于 T1 条件下,但未达到显著水平;而根茎干质量在不同温度条件下无差异。以上结果说明,高温胁迫下,AM 可以促进苍术地下部分生物量的积累。

表 1 不同温度下接种和不接种 *G. intraradices* 苍术根茎生物量

Table 1 Biomass in rhizom of *A. lancea* with or without *G. intraradices* in different temperatures

组别	根茎鲜质量/g	根茎干质量/g	根茎含水量/%	根干质量/g	地下总干质量/g
T1 CK	3.10±0.36 Aa	2.22±0.32 Aa	28.36±2.15 Aa	1.49±0.30 Aa	3.72±0.58 Aa
AM	2.61±0.56 Ab	1.92±0.33 Aa	26.15±4.29 Ab	1.20±0.36 Ab	3.12±0.65 Ab
T2 CK	3.71±0.63 Ba	2.65±0.46 Aa	28.68±2.19 Ba	2.05±0.62 Ba	4.70±0.99 Ba
AM	4.85±0.57 Aa	2.46±0.31 Aa	49.28±2.86 Aa	2.28±0.19 Aa	4.74±0.47 Aa

2.3 不同温度 AM 真菌对苍术根茎挥发油的量和组分的影响

2.3.1 不同温度 AM 真菌对苍术根茎总挥发油的影响 由表 2 可知,无论 T1 还是 T2 条件下,CK 组苍术总挥发油量和总挥发油组分数与 AM 组苍术相比均无显著差异。不同温度条件下 CK 总挥发油量和总挥发油组分数无差异;T2 条件下 AM 苍术的挥发油组分数显著高于 T1 条件下 ($P<0.05$),说明高温胁迫促进了 AM 苍术挥发油组分数的增加。

2.3.2 不同温度 AM 真菌对苍术根茎总挥发油中主要组分影响 由表 3 可知,无论在 T1 还是 T2 条件下,CK 组苍术各主要组分量与 AM 组苍术相比无差异。不同温度条件下 CK 各主要成分量无显著

差异,而在 T2 条件下 AM 苍术根茎挥发油中愈创醇与茅术醇的量显著低于 T1 条件下的量 ($P<0.05$)。

表 2 不同温度下接种和不接种 *G.intraradices* 对苍术根茎总挥发油组分数和主要组分量的影响

Table 2 Number of essential oil compositions and content of total essential oil in rhizom of *A. lancea* with or without *G. intraradices* in different temperatures

组别	总挥发油量/(mL·100g ⁻¹)	总挥发油组分数
T1 CK	4.46±1.65 Aa	72±34 Aa
AM	3.98±1.95 Aa	66±23 Ab
T2 CK	5.68±1.67 Aa	83±12 Aa
AM	5.51±1.27 Aa	111±31 Aa

表 3 不同温度下接种和不接种 *G. intraradices* 根内球囊霉苍术根茎挥发油主要组分量

Table 3 Major composition contents in essential oil of *A. lancea* with or without *G. intraradices* in different temperatures

组别	榄香醇/(mg·g ⁻¹)	愈创醇/(mg·g ⁻¹)	茅术醇/(mg·g ⁻¹)	β-桉叶醇/(mg·g ⁻¹)	α-桉叶醇/(mg·g ⁻¹)
T1 CK	0.459±0.233 Aa	0.771±0.555 Aa	4.807±3.030 Aa	6.900±4.559 Aa	0.585±0.461 Aa
AM	0.658±0.377 Aa	0.959±0.307 Aa	5.117±0.889 Aa	5.860±1.659 Aa	0.406±0.153 Aa
T2 CK	0.329±0.258 Aa	0.539±0.306 Aa	3.713±2.146 Aa	4.190±2.189 Aa	0.309±0.163 Aa
AM	0.281±0.230 Aa	0.405±0.317 Ab	2.922±2.103 Ab	3.909±2.527 Aa	0.239±0.178 Aa

3 讨论

本研究结果表明,高温胁迫可显著降低栽培苍术在自然条件下的侵染率;在常温条件接种 *G. intraradices* 对苍术根系 AM 真菌侵染率、地下生物量、总挥发油量、总挥发油组分数以及各主要组分量均无显著性影响,而高温胁迫下接种 AM 真菌有利于苍术地下部分生物量的积累,并增加 AM 苍术根茎挥发油组分数,影响苍术根茎挥发油中愈创醇与茅术醇的量。

高温胁迫下可以降低栽培苍术根系在自然条件下的侵染率,提示土壤微生物受温度的影响而改变

可能是高温限制苍术生长发育的机制之一,因为 30 ℃往往是大多数真菌最适温度^[11]。提示温度对 AM 苍术的影响可能是与不同温度下 *G. intraradices* 生长情况相关。

较高温度下接种 AM 真菌会对苍术根茎挥发油组分产生影响。本研究中,高温胁迫可促进 AM 苍术根茎挥发油组分数的显著增加。这与以往观点一致,即药用植物中被视为活性成分的次生代谢物,往往是为了抵御外界不利条件或伤害,在胁迫条件下产生和积累的^[12-15]。

AM 真菌在高温胁迫下对苍术地下部分生长的

促进作用强于常温条件。在高温胁迫下,接种 *G. intraradices* 后可显著提高苍术根系的侵染率,与未接种相比可提高4倍左右;接种后苍术根茎鲜质量、根茎含水量、根干质量、地下总干质量均显著提高($P<0.05$)。说明AM真菌在逆境条件下更能促进苍术地下部分的生物量的积累。李思龙等^[16]研究高温胁迫下丛枝菌根对牡丹生长的影响,研究结果发现接种AM真菌的牡丹幼苗的相对电导率、丙二醛的量均低于未接种AM真菌对照,而根系活力高于未接种AM真菌对照,从生理生化的角度解释了AM真菌可以提高植物幼苗在高温胁迫下的抗逆性的原因。

高温是实际栽培生产中影响苍术产量的一个主要因素。本研究表明,在环境温度较高的地区,通过接种AM真菌提高苍术的产量和质量,具有理论上的可行性。

参考文献

- [1] 中国科学院中国植物志编辑委员会. 中国植物志 [M]. 第27卷. 北京: 科学出版社, 1979.
- [2] 傅舜谟, 方洪钜, 刘国声, 等. 苍术属药用植物的研究 [J]. 植物分类学报, 1981, 19(2): 195-202.
- [3] 中国药典 [S]. 一部. 2010.
- [4] 郭兰萍, 黄璐琦, 阎洪, 等. 基于地理信息系统的苍术道地药材气候生态特征研究 [J]. 中国中药杂志, 2005, 30(8): 565-569.
- [5] 孟青, 冯毅凡, 郭晓玲, 等. 苍术有效部位化学成分的研究 [J]. 中草药, 2004, 35(2): 140-141.
- [6] 周洁, 郭兰萍, 黄璐琦, 等. 低钾胁迫对苍术生长发育及挥发油的影响 [J]. 中草药, 2008, 39(10): 1548-1552.
- [7] 曾燕, 郭兰萍, 孙宇章, 等. 丛枝菌根及其在中药材栽培中的应用 [J]. 世界科学技术—中医药现代化, 2007, 9(7): 83-87.
- [8] 吴志刚, 郭兰萍, 黄璐琦, 等. 接种VA菌根对苍术生长发育影响初步观测 [J]. 中药研究与信息, 2005, 7(11): 27-28.
- [9] 郭兰萍, 汪洪钢, 黄璐琦, 等. 泡囊丛枝菌根(AM)对苍术生长发育及挥发油成分的影响 [J]. 中国中药杂志, 2006, 31(18): 1491-1496.
- [10] Phillips J M, Haymann D S. Improved procedures for cleaning and staining parasitic and vesicular arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection [J]. Trans Br Mycol Soc, 1970, 55: 158-160.
- [11] Yuan Y, Liu Y J, Huang L Q, et al. Soil acidity Elevates some phytohormone and β -eudesmol contents in roots of *Atractylodes lancea* [J]. Russ J Plant Physiol, 2009, 56(1): 133-137.
- [12] 杨光, 郭兰萍, 黄璐琦, 等. 药用植物的丛枝菌根接种方法研究 [J]. 资源科学, 2008, 30(5): 778-785.
- [13] 郭兰萍, 黄璐琦. 中药资源的生态研究 [J]. 中国中药杂志, 2004, 29(7): 615-618.
- [14] 黄璐琦, 郭兰萍. 环境胁迫下次生代谢产物的积累及道地药材的形成 [J]. 中国中药杂志, 2007, 32(4): 277-280.
- [15] 郭兰萍, 黄璐琦. 中药资源生态学研究的理论框架 [J]. 资源科学, 2008, 30(2): 296-304.
- [16] 李思龙, 张玉刚, 陈丹明, 等. 丛枝菌根对高温胁迫下牡丹生理生化的影响 [J]. 中国农学通报, 2009, 25(7): 154-157.